

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1918

THÈSE

N^o

45

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

A. PELLÉ

BACTÉRIOLOGIE
DE
LA COQUELUCHE

Président : M. MARFAN, professeur.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUE & C^{te}, ÉDITEURS

15, Rue Racine (VI^e)

1918

45

THÈSE
POUR
LE DOCTORAT EN MÉDECINE

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1918

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

A. PELLÉ

BACTÉRIOLOGIE
DE
LA COQUELUCHE



Président : M. MARFAN, professeur.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, Rue Racine (VI^e)

1918

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

LE DOYEN : M. ROGER
ASSESEUR : G. POUCHET
PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	NICOLAS
Anatomie topographique	AUGUSTE BROCA
Physiologie	CH. RICHET
Physique médicale	WEISS
Chimie organique et Chimie générale	DESGREZ
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BLANCHARD
Pathologie et Thérapeutique générales	ACHARD
Pathologie médicale	N.
Pathologie chirurgicale	TEISSIER
Anatomie pathologique	LEJARS
Histologie	LETULLE
Opérations et appareils	PRENANT
Pharmacologie et matière médicale	N.
Thérapeutique	POUCHET
Hygiène	N.
Médecine légale	CHANTEMESSE
Histoire de la médecine et de la chirurgie	N.
Pathologie expérimentale et comparée	N.
Clinique médicale	ROGER
	DEBOVE
	WIDAL
	GILBERT
	CHAUFFARD
	HUTINEL
Maladies des enfants	N.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	GAUCHER
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	PIERRE MARIE
Clinique des maladies du système nerveux	DELBET
Clinique chirurgicale	QUENU
	N.
Clinique ophtalmologique	HARTMANN
Clinique des maladies des voies urinaires	DE LAPPERSONNE
	LESUEU
Clinique d'accouchements	BAR
	COUVELAIRE
	RIBEMONT-DESSAIGNES
Clinique gynécologique	POZZI
Clinique chirurgicale infantile	KIRMISSON
Clinique thérapeutique	ALBERT ROBIN
Hygiène et Clinique de la première enfance	MARFAN

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.			
ALGLAVE	GUILLAIN	LOEPER	ROUSSY
BERNARD	JEANNIN	MAILLARD	ROUVIERE
BRANCA	JOUSSET (A.)	MOCQUOT	SAUVAGE
BRUMPT	LABBE (H.)	MULON	SCHWARTZ (A.)
CAMUS	LAIGNEL-LAVASTINE	NICLOUX	SICARD
CASTAIGNE	LANGLOIS	NOBECOURT	TANON
CHAMPY	LECENE	OKINCZYC	TERRIEN
CHEVASSU	LEMIERRE	OMBREDANNE	TIFFENEAU
DESMAREST	LENORMANT	RATHERY	VILLARET
GOUGEROT	LEQUEUX	RETTERRER	ZIMMERN
GREGOIRE	LEREBoullet	RIBIERRE	
GUENIOT	LERI	RICHAUD	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation

A MES PARENTS

A MA FEMME

A MONSIEUR CHEVREL

Professeur suppléant à l'École de Médecine de Rennes.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MARFAN

Professeur à la Faculté de Médecine
Médecin de l'hôpital des Enfants-Malades
Membre de l'Académie de Médecine
Officier de la Légion d'honneur

*En le remerciant du grand
honneur qu'il nous fait en accep-
tant la présidence de cette thèse.*

PRÉFACE

Lorsqu'en 1913, M. Chevrel, professeur à l'Ecole de Médecine de Rennes, nous conseilla l'étude de la bactériologie de la coqueluche, la découverte de MM. Bordet et Gengou encore nouvelle, n'était pas unanimement acceptée. Les recherches de contrôle n'étaient pas très nombreuses et nous pensions que les nôtres seraient bien accueillies. La guerre est venue nous obliger à interrompre notre travail à un moment où il nous paraissait encore trop modeste pour constituer une thèse.

Après quarante-deux mois de guerre, c'est ce travail que nous nous décidons à présenter en nous excusant de sa modestie. Il nous a été bien impossible de le continuer et, désireux pourtant de terminer enfin nos études médicales, nous avons reculé devant les difficultés de l'étude d'un nouveau sujet.

Nous voulons assurer de notre gratitude M. Bodin, professeur à l'Ecole de Médecine de Rennes, qui nous a si aimablement reçu dans son laboratoire et guidé de ses précieux conseils.

Nous ne savons comment témoigner notre reconnaissance à M. Chevrel qui nous a initié aux techni-

ques de la bactériologie, qui nous a inspiré ce travail et vérifié la plupart de nos expériences.

Nous sommes aussi très reconnaissant envers M. Bouzat, professeur à la Faculté des Sciences, qui nous a donné de si grandes facilités pour nos études médicales.

MM. Bordet et Gengou ont bien voulu nous adresser, à plusieurs reprises, des échantillons de leur microbe qui ont servi à nos recherches ; nous les remercions ici bien vivement.

Nous adressons enfin un témoignage de reconnaissance à tous nos professeurs de l'Ecole de Médecine de Rennes.

BACTÉRIOLOGIE DE LA COQUELUCHE

La bactériologie de la coqueluche a fait depuis une trentaine d'années l'objet d'un nombre considérable de travaux. Blache et Lombard avaient en effet démontré, par des preuves cliniques, que la cause unique de la maladie résidait dans la contagion.

Beaucoup de microbes ont été isolés de l'expectoration et décrits comme représentant le véritable agent étiologique de la maladie.

Nous ne ferons que citer rapidement les recherches de Burger (1883) qui décrivit dans les crachats de coquelucheux un bâtonnet à étranglement médian qu'il ne put pas cultiver. M. Deichler (1890) y vit un protozoaire cilié. M. Ritter mit en évidence dans les crachats un diplocoque aérobic dont l'inoculation au chien provoquait des accès de toux coqueluchoïde. M. Galtier en 1892 décela la présence d'un autre diplocoque aérobic.

MM. Cohn et Neumann (1893) insistèrent à leur tour sur l'existence d'un coccus spécifique.

M. Koplick en 1897 décrivit un bacille. M. Leuriaux a prétendu que le germe coquelucheux serait un bâtonnet, court, trapu, mobile, prenant le Gram. M. Arnheim attribua le rôle spécifique à un bâtonnet

aux toxines duquel la grenouille était sensible. M. Manicatide (1905) décrivit à son tour un autre bacille spécifique selon lui.

MM. Czaplewski et Hensel décrivirent en 1897, un petit bâtonnet (*Bacillus tussis convulsivæx*) qui prenait le Gram et qui se colorait plus au niveau de ses pôles qu'en son milieu.

MM. Afanassief, Jochmann et Krause en 1901, trouvèrent dans l'expectoration des enfants coquelucheux un petit bacille qui présentait les caractères du microbe de l'influenza.

Si on néglige les protozoaires et les cocci qui ont été décrits on s'aperçoit que, malgré une apparence de contradiction entre les auteurs, ceux-ci ont assez fréquemment décrit un petit bacille qu'ils ont vu soit dans les frottis, soit dans les cultures, assez ressemblant au bacille de Pfeiffer.

Mais aucun de ces microbes ne put faire la preuve de sa spécificité.

Pour MM. Bordet et Gengou tous les microbes décrits appartiennent au groupe des saprophytes ou parasites qui compliquent la coqueluche.

C'est en 1906 que les deux savants belges communiquèrent leurs premières recherches à l'Académie de Médecine de Belgique. Ils isolèrent de l'expectoration d'un enfant de deux mois, contaminé, n'ayant jamais présenté d'affections respiratoires, un bacille dont ils donnèrent la description, le différenciant des microbes trouvés jusqu'alors. Ils apportèrent en même temps la preuve de sa spécificité.

Les travaux de MM. Bordet et Gengou ont été confirmés depuis par quelques auteurs. MM. Klimenko et Frænkel ont pu reproduire une coqueluche expérimentale chez des jeunes chiens et des singes.

MM. A. Netter et Mathieu-Pierre Weil, qui ont étudié la réaction de fixation du complément vis-à-vis du microbe de Bordet et Gengou, sont arrivés à des résultats tout à fait concordants avec ceux de ces auteurs.

M. Delcourt, agrégé de la Faculté de Bruxelles, est arrivé à des résultats analogues.

Les travaux de Itsuyoshi Inaba confirment ceux de Bordet et Gengou. Shiga, Imai et Eguchi ont retrouvé ce microbe dans la plupart des cas de l'épidémie de Tokio.

Tout récemment deux médecins danois Mme Ingeborg Chievitz et Adolphe-H. Meyer viennent de confirmer brillamment la découverte de Bordet et Gengou.

Il est cependant des auteurs qui montrent quelque septicisme au sujet de la spécificité de ce bacille, notamment Hetsch et Kolle.

Poleff prétend avoir constaté le bacille de Bordet et Gengou dans d'autres maladies des voies respiratoires.

Manicatide ne croit pas non plus à la spécificité du bacille de Bordet et Gengou ; il prétend que c'est son bacille « r » qui est spécifique. Mais d'autres auteurs n'ont point confirmé ses expériences. Odaira suppose même que les symptômes de la coqueluche

peuvent être provoqués par d'autres microbes et que la coqueluche ne peut pas être considérée comme une entité morbide : c'est plutôt un syndrome.

Tout dernièrement R. Kraus de l'Institut bactériologique de Buenos-Aires a prétendu que l'étiologie de la coqueluche n'est pas définitivement établie. Il pense que le microbe de Bordet et Gengou serait plutôt un agent secondaire de la maladie tout comme le bacille de Pfeiffer dans la rougeole ou le streptocoque dans la scarlatine. Dans le doute Kraus préfère s'abstenir de souscrire au rôle spécifique du microbe de Bordet et Gengou.

Il émet, en attendant, l'hypothèse que l'agent pathogène de la coqueluche est un virus filtrant.

La spécificité du bacille de la coqueluche est démontrée non seulement par sa présence dans les expectorations des malades atteints de coqueluche, et la possibilité de préparer des cultures avec ces bacilles, mais encore par la présence dans le sang des malades des agglutinines et des corps qui devient le complément. Nos expériences ont donc porté sur ces différents points. Nous nous sommes particulièrement occupé de la recherche de l'agglutinine et de la sensibilisatrice dans le sang des coquelucheux.

I. — EXAMEN BACTÉRIOSCOPIQUE DE L'EXPECTORATION

Pour faire un examen dans de bonnes conditions, MM. Bordet et Gengou conseillent de le faire tout à fait au commencement de la maladie. Ultérieurement les crachats deviennent le siège d'une infection polymicrobienne au milieu de laquelle il est difficile de reconnaître le cocco-bacille spécifique. Il semble d'ailleurs disparaître précocement de l'expectoration.

L'examen devra porter sur un crachat choisi avec soin : crachat épais, grisâtre, puriforme, non mélangé de salive, rejeté de la profondeur des bronches. Chez les tout petits enfants, qui n'expectorent pas, le crachat pourra être recherché dans le larynx ou sur la luette où il aura pu être rejeté lors d'une quinte de toux.

Coloration. — Les frottis seront colorés avec le liquide de Ziehl dilué ou mieux avec le colorant suivant de Bordet et Gengou :

Bleu de toluidine (de Grüber).....	5 gr.
Alcool à 90 degrés.....	100 cc.
Eau.....	500 cc.
Dissoudre, puis ajouter :	
Eau phéniquée à 5 o/o.....	500 cc.
Agiter. Filtrer au bout de quarante-huit heures.	

La coloration se fera en trois à cinq minutes. Il est inutile de fixer les lames avant d'y verser le colorant : l'acide phénique qu'il renferme remplira suffisamment ce but.

L'examen microscopique d'une telle préparation nous montre une grande richesse en leucocytes avec un grand nombre de petites bactéries, de forme ovoïde, parfois un peu allongées, parfois plus courtes (cocci). Ces cocco-bacilles se présentent, en général, par groupes de deux se regardant par leurs extrémités, exceptionnellement sous forme de chaînette. Ils sont moins facilement colorables que les microbes usuels par les couleurs d'aniline. Le bleu de toluidine en solution phéniquée les teinte en lilas ; les extrémités sont plus colorées que le centre. Ces cocco-bacilles ne prennent pas le Gram.

Suivant Bordet et Gengou la pullulation est parfois d'une telle abondance et d'une telle pureté qu'on ne peut se refuser d'admettre une relation de causalité directe entre cette infection et l'apparition de la coqueluche.

MM. Bacher et Menschikoff (*Centralb. f. Bakteriolog.*, 1911, L XI-3) ont retrouvé le microbe dans l'expectoration et ont pu l'identifier. Sleeswijk l'a observé avec assez de fréquence pour affirmer que le bacille de Bordet et Gengou est l'agent certain de la coqueluche.

Les recherches de Klimenko ont porté sur un nombre important de malades. Dans une première série de recherches, sur 76 coquelucheux examinés, il reconnut soixante-quatre fois le bacille, soit dans

84 o/o des cas. Il ne le trouva pas, par contre, chez 31 enfants atteints de maladies diverses (pharyngite, bronchite, grippe), ni chez 50 enfants bien portants.

Dans une deuxième série de 30 cas de coqueluche, il constata à l'examen des crachats la présence du bacille dans 27 cas, soit 90 o/o.

Le travail de Itsuyoshi Inaba occupe une place prépondérante parmi les travaux ayant pour but l'étude bactériologique de l'expectoration dans la coqueluche. L'auteur examina l'expectoration de 80 enfants et d'un adulte atteints de coqueluche. Sur ces 81 cas il trouva soixante-dix-huit fois le bacille; dans les trois derniers cas les expériences ont été entreprises trop tard. On obtient les meilleurs résultats si l'examen est fait dans la période transitoire entre les périodes catarrhale et convulsive.

Shiga, Imai et Eguchi trouvèrent dans la plupart des cas examinés pendant l'épidémie de Tokio, le bacille de Bordet et Gengou surtout dans la première période. Le bacille se trouvait alors dans les expectorations presque sous forme de culture pure.

Il est donc incontestable, comme l'a écrit M. Mathieu-Pierre Weil, que c'est là un procédé de diagnostic qui mérite, pour ce qui est du moins d'un très grand nombre de cas de coqueluche, d'entrer dans les usages courants.

Fréquemment la constatation sur les lames d'un très grand nombre de cocco-bacilles qui présentent les caractères donnés par Bordet et Gengou, viendra

permettre de soupçonner ou d'affirmer une coqueluche débutante. Toutefois, ce n'est guère qu'au commencement de la maladie que l'examen direct pourra être d'une grande importance.

Cependant Mlle Wollstein (*Journal of experim. Med.*, 1909) sur 20 malades coquelucheux ne trouva que cinq fois le bacille de Bordet et Gengou. Odaira ne l'a observé que huit fois sur 42 cas.

Nous n'avons pas eu d'occasions favorables pour obtenir des préparations caractéristiques. Nos prélèvements ont été faits à l'Hôtel-Dieu où les petits malades arrivent généralement à une période avancée de leur coqueluche. Nous avons cependant observé trois frottis assez caractéristiques chez des sujets dont la maladie remontait à deux et trois semaines. Mais il est bien difficile de faire avec sûreté le diagnostic par la bactérioscopie.

Dans la plupart des cas on trouve une telle quantité de microbes différents, et surtout des microbes ressemblant à celui de Pfeiffer, qu'on ne peut avoir une certitude.

Si, rapproché de l'histoire clinique, l'examen d'un crachat d'un sujet suspect de coqueluche peut avoir une valeur pratique, il convient d'être réservé sur des recherches faites en dehors de tout examen clinique. Des différences morphologiques séparent bien le microbe de Bordet et Gengou du microbe de Pfeiffer : celui-ci est plus petit, moins ovoïde, moins régulier. Mais ce sont là des nuances dont la perception est souvent fort délicate.

Ainsi le diagnostic ne pourra-t-il souvent être formulé que par des éléments d'appréciation autres que ceux qui sont fournis par le simple examen des crachats. En général on ne pourra faire le diagnostic qu'à la culture.

II. — CULTURE

Le microbe de Bordet et Gengou est absolument incultivable dans les milieux usuels stérilisés à l'autoclave (gélose, gélatine, bouillon ordinaire).

Les auteurs font remarquer que ce fait permet d'écarter divers microbes, poussant facilement sur les milieux ordinaires, signalés par certains observateurs (Afanassiew, Czaplewski, Henzel, Vincenzi, Manicatide et Leuriaux) et qu'on ne trouve pas du reste dans les crachats coquelucheux bien purs.

Le bacille de la coqueluche ne se développe sur les milieux usuels que lorsqu'ils ont été additionnés de liquides organiques non chauffés.

Bordet et Gengou ont réussi à faire leurs premières cultures en employant un milieu très propice à l'obtention des microbes délicats et fort utile en particulier pour les recherches sur la flore des voies respiratoires. Ce milieu est constitué par la gélose-pomme de terre-sang.

Milieu gélose-pomme de terre-sang

Pour préparer ce milieu de culture, on ajoute à 200 centimètres cubes d'eau glycinée à 4 o/o,

100 grammes de pomme de terre coupée en tranches.

Faire cuire le mélange et séparer la partie liquide.

Prendre 50 centimètres cubes de cet extrait glycéринé et concentré de pomme de terre. Additionner de : 150 centimètres cubes de solution de chlorure de sodium à 0,6 o/o, 5 grammes de gélose.

Faire fondre cette gélose dans le mélange, à l'autoclave.

Le liquide, encore chaud, sera réparti dans des tubes ou des boîtes de Pétri à raison de 2 ou 3 centimètres cubes.

Après stérilisation les tubes seront mis à refroidir en position inclinée.

Au moment de s'en servir ils seront additionnés d'une quantité égale de sang de lapin ou d'homme, défibriné ou non.

Les microbes de Bordet et Gengou se développent sur ce milieu avec une certaine lenteur ; il faut maintenir deux jours à l'étuve. La culture ainsi obtenue n'est pas très exubérante, mais le microbe s'acclimate peu à peu et donne des cultures relativement prospères.

Lorsqu'on ensemence en stries assez étroites, on voit la couche s'épaissir et former une couche blanche opaque, assez épaisse après deux jours. Le développement se fait plus en épaisseur qu'en largeur.

Les formes anormales sont rares ; le microbe de la coqueluche conserve avec constance son aspect de petit cocco-bacille dont les dimensions peuvent être cependant réduites dans les vieilles cultures.

Milieux liquides

Les cultures en milieux liquides réussissent parfaitement à condition de tenir compte des exigences remarquables que manifeste le microbe au point de vue du contact avec l'atmosphère (Bordet et Gengou, note complémentaire sur le microbe de la coqueluche. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1907).

Les cultures doivent être faites dans un vase à fond large et plat, où l'on ne versera qu'une quantité de liquide telle que le milieu n'ait pas plus de 1 centimètre d'épaisseur.

D'après Bordet et Gengou le meilleur milieu est constitué par un mélange à parties égales de bouillon peptonisé et glycérimé à 10/0 et de sérum de cheval chauffé trois quarts d'heure à 57 degrés.

Nous avons fait plusieurs ensemencements sur le milieu liquide bouillon ascite. Après quatre ou cinq jours le fond du vase est tapissé d'un léger dépôt blanchâtre, adhérent et visqueux.

Nous nous sommes également servi du milieu bouillon à l'œuf de A. Besrédka et F. Jupille (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXVII).

Nous avons bien obtenu au bout du troisième jour une culture sous forme d'une mince pellicule adhérente au verre ; mais le microbe n'est pas resté vivant plus de douze jours.

Cependant les auteurs ont pu s'assurer que ce

microbe, pourtant si fragile, reste vivant, en boîtes de Roux, même après quatre mois de séjour à l'étuve.

Le microbe de la coqueluche, en milieux liquides, présente un polymorphisme assez accusé ; d'une façon générale sa taille s'accroît, les dimensions sont plus variables. Nous avons rencontré :

1° Des formes en cocci, qui sont les moins nombreuses ;

2° Des formes bacilles, dont les dimensions variaient de $1\ \mu$ à $11\ \mu$ de longueur, et de un tiers μ à $1\ \mu$ de largeur ;

3° Quelques formes légèrement incurvées.

Isolement. — L'isolement sera tenté sur le milieu de choix qui est la gélose-pomme de terre-sang. C'est là une recherche fréquemment difficile à cause de l'infection polymicrobienne de l'expectoration. D'ailleurs le bacille n'existe de façon constante et abondante que durant la première période de la maladie. De plus il est souvent impossible de se procurer l'expectoration du commencement de la période catarrhale ; les enfants toussent suffisamment mais n'expectorent pas. Les tentatives faites pour obtenir une expectoration à cette période échouent souvent et la mucosité qu'on obtient ne contient en général pas de microbes de Bordet et Gengou.

Pour recueillir les crachats dans de bonnes conditions, Mme Ingeborg Chievitz et M. Adolphe-H. Meyer conseillent d'abaisser la langue des petits malades avec une spatule métallique pendant les quintes. L'expectoration reçue sur la spatule à la fin de la

quinte est placée dans un tube stérile et délayée dans une solution physiologique stérilisée.

Il importe de recueillir l'expectoration avec beaucoup de soin pour obtenir un crachat visqueux et consistant, gluant, muco-purulent, sans mélange de mucus de la bouche ou de la gorge et d'aliments rejetés. Parfois le vomissement empêche de recueillir l'expectoration.

On recherchera donc l'exsudat caractéristique que l'on délaiera à des degrés divers dans la solution physiologique et onensemencera sur le milieu gélose-pomme de terre-sang contenu dans des tubes ou mieux dans des boîtes de Pétri.

Alors même qu'on a utilisé pour l'ensemencement une expectoration contenant en très grand nombre le bacille il peut arriver que rien ne révèle à l'œil nu, au bout de deux jours d'étuve, qu'un micro-organisme a poussé. Mais le fil de platine promené sur la surface qui paraissait stérile ramène en quantité très faible le microbe cherché. Si onensemence à nouveau, il se développera une culture plus intense.

Parfois au bout de trois ou quatre jours d'étuve si le microbe de Bordet et Gengou a poussé, on voit, sur la boîte de Pétri des colonies polies, luisantes et saillantes, semblables à des gouttelettes de mercure, nombreuses ou rares suivant les cas.

Ces colonies renferment le cocco-bacille de la coqueluche dont la morphologie est identique à celle trouvée dans l'exsudat.

Pour différencier une culture du bacille de Bordet et Gengou d'avec une culture du bacille de Pfeiffer, si comparable à elle par bien des points, on s'appuiera sur les notions suivantes : le bacille de Pfeiffer, contrairement à celui de la coqueluche, a un besoin absolu d'hémoglobine pour pousser, et il ne peut être entraîné à vivre sur les milieux qui en sont privés.

Sur les milieux solides sa culture s'élargit, elle se festonne sur les bords où elle devient translucide. Contrairement au bacille de Bordet et Gengou le bacille de Pfeiffer pousse plus en largeur qu'en épaisseur.

Résultats. — Finizio examinant dix enfants atteints de coqueluche obtint une culture positive pour sept. Les médecins danois, Mme Ingeborg Chievitz et M. Meyer, dans une communication à la Société des médecins de Copenhague (avril 1916), ont fait connaître les résultats des 205 examens qu'ils ont pu faire depuis décembre 1913. Ils ont obtenu sur :

34 expectorations de la 1 ^{re} à la 2 ^e semaine, 27 résultats positifs			
40	—	2 ^e à la 3 ^e	— 26 —
37	—	3 ^e à la 4 ^e	— 12 —
94	—	de plus de 1 mois	— 4 —

On peut résumer ainsi ces recherches :

1^o Chez les malades toussant depuis deux semaines, ayant eu des quintes caractéristiques pendant une semaine tout au plus, on obtient presque toujours les microbes de la coqueluche par la culture.

2° Chez ceux qui ont eu des quintes depuis deux semaines, les microbes ont été obtenus à peu près dans les deux tiers des cas.

3° Chez ceux qui sont à la troisième semaine de la période convulsive, les microbes se cultivent dans un tiers des cas.

4° Plus tard la culture est presque toujours négative. Il résulte donc des premiers résultats donnés par l'examen bactérioscopique des crachats et par la culture que les malades ne restent porteurs de germes que pendant trois ou quatre semaines.

Ce fait signifie-t-il que le microbe a disparu et que par conséquent la maladie n'est plus contagieuse ? C'est l'avis de beaucoup de médecins et en particulier de M. Adolph-H. Meyer. Le ministère de l'Instruction publique du Danemark dans son décret du 15 mars 1916, se basant sur les recherches de l'auteur, autorise à l'avenir, à fréquenter les écoles les enfants dont la période convulsive a duré quatre semaines.

La quarantaine imposée aux enfants coquelucheux dans les familles, les asiles, les écoles, doit donc être abrégée. Ce n'est pas trente jours après la dernière quinte qu'on permettra le retour à la vie commune, comme cela est exprimé dans certains règlements universitaires attardés, mais trente jours après le début de la maladie. Il n'y a aucun avantage à imposer l'isolement prolongé et rigoureux qu'une connaissance imparfaite de la maladie avait fait adopter.

Cette opinion émise par M. Weill (de Lyon), par-

tagée par M. J. Comby et beaucoup d'autres, est donc aujourd'hui confirmée par les recherches de laboratoire.

Mme Gouralka, médecin polonais, a montré dans 2 cas, que les microbes peuvent rester vivants dans une expectoration desséchée jusqu'à trois jours.

Cela prouverait la possibilité théorique de la transmission de la coqueluche par des objets ou des personnes ayant été en contact avec les malades.

M. Klimenko ne put, dans sa première série de recherches, isoler le microbe par culture, que cinq fois sur 56 cas, c'est-à-dire dans 6 o/o des cas seulement. Il s'agissait de coqueluche récente : dans 4 cas au premier septénaire des quintes et dans le cinquième, au deuxième septénaire.

Dans une deuxième série de recherches ce bactériologiste obtint des cultures positives dans 10 o/o des cas.

Odaira, sur 42 cas de coqueluche, n'a observé le bacille de Bordet et Gengou que dans 8 cas.

Nos expériences personnelles, faites à une période trop avancée de la coqueluche, n'ont pu aboutir à l'isolement du microbe de Bordet et Gengou. Nous avons ensemencé sur pomme de terre-gélose-sang les trois expectorations qui nous avaient paru caractéristiques sur les frottis. Dans un cas il nous a semblé avoir obtenu le cocco-bacille ; mais nous n'avons pu l'identifier complètement (agglutination et déviations du complément), nos recherches ayant été interrompues par la guerre.

Nous avons éprouvé de grosses difficultés pour nous procurer une expectoration bien propre à l'investigation. A la période catarrhale du début, sans quintes, la plus contagieuse de toutes, il est très difficile d'obtenir une expectoration pour l'examen et les cultures. Nous aurions voulu connaître la méthode expérimentée par M. Adolph-H. Meyer, de Copenhague, méthode dite « d'ensemencement par projection de gouttelettes » (*Annales de l'Institut Pasteur*, octobre 1916).

Elle consiste à faire tousser des enfants contre des boîtes de Pétri contenant des milieux ; la boîte est tenue à une distance de 10 centimètres de la bouche des malades.

Ce procédé est simple et facile ; il ne gêne pas les malades et peut être appliqué par la garde-malade.

Sur 49 coquelucheux ainsi examinés à la période catarrhale M. Meyer a obtenu le microbe de Bordet et Gengou dans 32 cas.

Le grand avantage de cette méthode d'ensemencement par gouttelettes est de donner rapidement un diagnostic à une époque de la maladie où ce diagnostic ne peut être fait par les signes cliniques.

A l'Institut sérothérapique de l'Etat danois a été créée une section de diagnostic de la coqueluche basé sur l'examen des crachats et du sang reçus du dehors. Pour faciliter la tâche des médecins praticiens chargés de recueillir les expectorations des malades, on envoie des milieux de culture dans des boîtes de fer blanc, transportés par la poste, à l'usage

des hôpitaux d'enfants, des crèches, des salles d'asile, des médecins praticiens, etc.

Jusqu'au milieu de février 1916 l'Institut sérothérapique avait reçu 110 échantillons de crachats ; sur ces 110 échantillons 17 provenaient de médecins praticiens et 93 des hôpitaux.

Le microbe de la coqueluche n'a été trouvé dans aucun des cas que la suite a montré ne pas relever de la coqueluche. Dans de nombreux cas on a trouvé les microbes de Bordet-Gengou. Les trois exemples suivants montrent l'intérêt que peut présenter cette recherche.

1° L'expectoration d'un instituteur du Jutland est examinée ; on découvre le microbe de la coqueluche en culture pure.

2° On a trouvé les microbes dans l'expectoration d'un malade de l'hôpital d'enfants, chez lequel on ne soupçonnait pas la source de la contagion, car il était là depuis longtemps.

3° Alors, on se rappela qu'un médecin de l'hôpital toussait violemment, et en examinant ses crachats, on y a trouvé le microbe de la coqueluche. Malheureusement le médecin avait déjà contaminé plusieurs enfants de l'hôpital..

Dans la moitié des cas environ, on n'a pas trouvé de microbes de la coqueluche dans les échantillons de crachats reçus, quoique l'expectoration provint d'enfants à la période catarrhale ou au début de la période convulsive. Cela tient aux impuretés des

crachats envoyés : aliments, mucosités de la bouche, etc...

Nous avons vu que la culture du bacille de Bordet et Gengou avait beaucoup de ressemblance avec celle du bacille de Pfeiffer ; ils ne se distinguent morphologiquement que par des nuances. Pour avoir la certitude absolue il importe donc de pousser plus loin les investigations. Il faut en particulier rechercher les actions agglutinantes et anticomplémentaires exercées sur le microbe par des sérums immunisés.

III. — AGGLUTINATION

MM. Bordet et Gengou ont pu obtenir, par immunisation du cheval, un sérum extrêmement agglutinant (1 pour 5000). Mme Chievitz et M. Meyer ont eux aussi obtenu un immun-sérum de lapin, mais beaucoup plus faiblement agglutinant (1 pour 500).

Nous avons nous-même préparé des lapins, par injections successives de microbes sous la peau, mais nous n'avons jamais pu obtenir un sérum agglutinant au delà de 1 pour 250.

Recherche de l'agglutinine dans le sérum des coquelucheux

Il est d'une importance toute particulière dans les tentatives d'agglutination avec le microbe de Bordet et Gengou, d'avoir toujours des tubes témoins. C'est qu'en effet avec une émulsion bactérienne dans une solution physiologique, une suspension de microbes en apparence homogène donne souvent une agglutination spontanée si elle est laissée au repos.

Le sérum des enfants atteints ou convalescents de coqueluche se montre très inconstant au point de

vue de l'agglutination. Elle existe souvent d'une manière manifeste sans être cependant d'une intensité bien remarquable. Nous n'avons jamais pu l'obtenir avec des dilutions dépassant 1 pour 100.

Les propriétés agglutinantes des sérums de coquelucheux ont été confirmées par une série d'auteurs.

M. Arnheim a obtenu l'agglutination avec des dilutions de 1 pour 50, Seiffert avec des dilutions variant de 1 pour 16 à 1 pour 32.

Mentschikoff et Freeman ont trouvé aussi que cette agglutinine était toujours en faible quantité lorsqu'elle existait.

Finizio a obtenu cinq fois un résultat positif sur dix cas (dilution de 1 pour 40 à 1 pour 60), pour des malades au cours de la quatrième et cinquième semaine.

Fränkel prétend que cette agglutinine manque dans la plupart des cas. Les recherches de Kon arrivent au même résultat. Cependant Bordet et Gengou ont trouvé que les sérums d'enfants récemment guéris ont un pouvoir agglutinant dont l'énergie est modérée mais qui est constant et manifeste; mais il est important que les bacilles de la coqueluche soient cultivés en milieux préparés avec du sang.

Nous avons effectué une série de recherches (25) qui nous ont donné les résultats suivants: L'agglutinine n'est apparue qu'au bout de la troisième semaine et c'est à la quatrième semaine qu'elle a été trouvée le plus fréquemment. Sur cinq malades exa-

minés à cette période nous avons obtenu cinq résultats positifs.

Nous ne l'avons plus retrouvée après six semaines. Nous avons vérifié l'agglutination à des dilutions variant de 1 pour 5 à 1 pour 50.

Dans trois cas nous avons trouvé la réaction positive avec une dilution de 1 o/o.

Ces différents résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous :

DURÉE DE L'AFFECTION avant la recherche de la réaction	NOMBRE de malades	RÉACTION POSITIVE		RÉACTION négative
		1/5 à 1/50	1/5 à 1/100	
2 semaines.....	2	0	0	2
3 semaines.....	3	2	0	1
4 semaines.	5	2	3	0
5 semaines.....	2	1	0	1
6 semaines.....	1	1	0	0
7 semaines.....	1	0	0	1
2 mois.....	2	0	0	2
3 mois.....	1	0	0	1
6 mois.....	1	0	0	1
1 an.....	4	0	0	4
2 ans.....	1	0	0	1
7 ans.....	1	0	0	1
9 ans.....	1	0	0	1
Totaux....	25	6	3	16

Avec MM. Bordet et Gengou, nous pensons donc que l'agglutination existe souvent d'une façon manifeste, sans être cependant d'une intensité bien grande.

Elle peut parfois manquer totalement ; elle apparaît, en général, trop tardivement pour permettre le séro-diagnostic de la coqueluche.

Mais alors on se trouve en présence de sérums

qui, sans être nettement agglutinants, sont très fortement sensibilisateurs. Bordet et Gengou pensent même qu'il y a dissociation des deux propriétés.

Sensibilisatrice

Dès leur première communication, Bordet et Gengou avaient insisté sur la netteté du pouvoir sensibilisateur du sérum des coquelucheux. Les recherches de contrôle ont été quelque peu discordantes.

Frænkel, en particulier, affirme que le sérum des sujets convalescents de coqueluche se comporte comme celui des sujets normaux quand il est mis en présence du bacille de Bordet et Gengou.

Cette sensibilisatrice a été également contestée par des bactériologistes de l'Institut sérothérapique de Vienne et de l'Institut Rokefeller de New-York.

Emu de ces constatations, M. Bordet en collaboration avec M. Gengou, puis avec M. Sleeswijk, *Séro-diagnostic et variabilité des microbes suivant le milieu de culture* (*Annales Institut Pasteur*, juin 1900) en rechercha la raison.

Il put mettre en évidence l'importance du milieu sur lequel avait été cultivé le microbe employé pour l'expérience.

M. Frænkel se servait de gélose ordinaire additionnée d'une quantité minime de sang.

Or, MM. Bordet et Gengou purent montrer que, sur ce milieu beaucoup plus artificiel que le leur, le

bacille perdait certaines de ses propriétés et entre autre une bonne partie de sa toxicité.

Le microbe, mis dans de pareilles conditions d'existence tend à devenir un saprophyte. Or, suivant qu'on cultive celui-ci sur l'un ou l'autre milieu, il se comporte d'une manière absolument différente vis-à-vis du sérum d'animaux immunisés.

Le sérum d'un cheval soumis à de nombreuses injections de bacilles coquelucheux développés sur un milieu au sang, agglutine énergiquement les microbes coquelucheux qui ont poussé sur un milieu riche en sang, mais non ceux qui se sont développés sur un milieu semblable à celui de M. Fränkel, c'est-à-dire pauvre en sang, et inversement.

Et, ce qui est vrai pour le pouvoir agglutinant l'est aussi, bien qu'à un degré un peu moindre, mais cependant très net encore, pour le pouvoir sensibilisateur.

La recherche de la réaction de déviation du complément en présence du cocco-bacille de Bordet et Gengou nécessite donc une minutie plus grande encore que celle qui est indispensable pour toutes les recherches du même genre.

1^o *Préparation de l'antigène.* — Les cultures du bacille qui va servir d'antigène doivent être entretenues sur des milieux très riches en sang. M. Mathieu-Pierre Weil conseille en outre d'expérimenter avec un cocco-bacille récemment isolé. Il a remarqué, constatation déjà faite par M. Bordet, que des sérums qui déviaient le complément lorsqu'ils étaient mis en

présence de cultures jeunes du bacille de Bordet et Gengou, peuvent ne plus le dévier lorsqu'on emploie pour l'expérience des cultures entretenues depuis plusieurs années sur des milieux au sang.

La couche microbienne qui se détache facilement, avec une fine baguette de verre, du tube où elle s'est développée, sera émulsionnée dans 2 centimètres cubes de la solution physiologique. Il faut prendre bien soin de ne pas enlever la moindre parcelle du milieu.

L'émulsion opalescente doit être blanchâtre et ne présenter aucune teinte rosée.

Il importe, pour chaque expérience, d'avoir un antigène fraîchement préparé dont on titrera le pouvoir anticomplémentaire.

Il conviendra, en général, d'employer pour la recherche de la déviation du complément, 0 cmc. 2 à 0 cmc. 3 de l'antigène ainsi préparé.

2° *Hématies de mouton*. — Prendre du sang de mouton défibriné. Laver trois fois avec solution physiologique et centrifuger. Après le troisième lavage délayer les globules dans une quantité de solution physiologique suffisante pour ramener au volume primitif du sang employé.

3° *Sérum hémolytique*. — Recueillir du sang de lapin anti-mouton. On décante le sérum que l'on chauffe pendant une demi-heure à 56 degrés.

Il faut, pour chaque expérience, titrer l'activité du sérum hémolytique.

4° *Alexine*. — On prend du sérum frais de cobaye.

Pour nos expériences nous avons employé ce sérum dilué au quart à des doses qui ont varié de 0 cmc. 2 à 0 cmc. 4.

Comme la force de l'alexine varie dans les sérums des différents cobayes, il faut déterminer par des essais préliminaires, le minimum d'alexine pour obtenir l'hémolyse totale en présence de l'antigène.

5° *Sérum du malade.* — Soumettre ce sérum à la température de 56 degrés pendant une demi-heure. On détruit ainsi l'alexine qui pouvait exister.

Mathieu-Pierre Weil conseille de faire l'expérience avec des sérums chauffés et non chauffés. M. Noguchi a montré en effet que si le chauffage d'un sérum à 56 degrés détruit l'alexine, une certaine quantité de sensibilisatrice disparaît en même temps.

Nous avons en général employé pour nos expériences, la dose de 0 cmc. 4.

Ayant fait, au moyen d'une pipette, le mélange des différentes quantités : de sérum des malades, d'antigène, d'alexine, on laisse trois quarts d'heure à l'étuve.

Pendant ce temps, l'antigène réuni aux anticorps, s'ils existent dans le sérum, exercera son pouvoir de fixer l'alexine. Dans les cas positifs, lorsqu'on aura ajouté du sang de mouton et le sérum hémolytique, l'hémolyse sera faible ou nulle après une heure à 37 degrés.

Comme le plus souvent, dans les cas de coqueluche, il s'agit de réactions assez faibles qui pourraient disparaître en ajoutant un excès d'alexine, les

essais préliminaires pour déterminer la quantité la plus faible d'alexine pour l'hémolyse totale, sont très importants.

Il importe en outre de multiplier les témoins :

- 1^o Mélange du système hémolytique plus alexine ;
- 2^o Mélange du sérum hémolytique plus hématies ;
- 3^o Mélange de sérum à examiner plus antigène, plus sérum hémolytique, plus hématies ;

4^o Mélange de la dose la plus élevée du sérum employé plus système hémolytique, plus alexine (pour constater si le sérum employé à haute dose n'est pas susceptible de fixer à lui seul le complément) ;

5^o Mélange : antigène, alexine et système hémolytique (contre partie du précédent pour voir si l'antigène n'est pas susceptible à lui seul, de fixer l'alexine).

Nous devons en plus opérer sur plusieurs sérums témoins d'individus n'ayant jamais eu la coqueluche.

Résultats. — Les recherches de Bordet et Gengou, puis de MM. Netter et Mathieu-Pierre Weil ont prouvé que, au cours de la coqueluche, se développe d'une façon constante, dans le sérum des malades, une sensibilisatrice spécifique vis-à-vis du bacille de Bordet et Gengou. Mais ce n'est qu'à un moment assez avancé de la maladie que cette sensibilisatrice peut être mise en évidence par la déviation du complément.

Ainsi Netter et Mathieu-Pierre Weil trouvèrent la réaction négative chez trois enfants examinés tout à fait au début de leur coqueluche. Il en fut de même

dans 16 autres cas où l'examen fut pratiqué dans la première période de l'affection.

La réaction apparaît à la fin du deuxième septénaire et au quinzième jour des quintes ils l'ont toujours trouvée positive.

Lors de la troisième semaine des quintes et *a fortiori* lors de la défervescence et de la convalescence, la réaction est constamment positive.

M. Renaux (*Réactions sérologiques de la coqueluche* (Société royale des sciences médicales et naturelles de Belgique, nov. 1913) prétend cependant que l'apparition de la réaction est exceptionnelle au bout de la deuxième semaine et qu'elle n'est vraiment caractéristique qu'au bout du deuxième mois.

M. Arnold Netter et Mathieu-Pierre Weil ont cherché pendant combien de temps persistait, dans les sérums d'individus guéris de la coqueluche, la sensibilisatrice spécifique. En général, on peut la retrouver deux années après la maladie, dans un cas les auteurs ont pu la mettre en évidence treize années après la guérison.

Les récidives de coqueluche semblent ne pouvoir se produire que chez les sujets dans le sérum desquels manque cette sensibilisatrice. Ils ont trouvé, en outre, que le sérum des coquelucheux atteints en même temps de rougeole au début de la période d'éruption ne dévie plus le complément en présence du bacille de Bordet et Gengou : ce serait là un nouvel exemple de l'anergie morbillieuse (Netter et Porak, *Semaine médicale*, 1912).

Un certain nombre d'auteurs sont arrivés à des résultats analogues. Suivant M. Meyer la réaction de déviation du complément peut disparaître au bout de quelques mois et parfois plus vite.

M. Arnheim ayant fait porter ses recherches sur 15 sujets atteints de coqueluche observa la réaction dans 12 cas. M. Freeman dit l'avoir trouvée d'une façon constante.

Sur 23 sujets examinés de un à trois mois de la coqueluche Mme Chievitz et M. Meyer ont trouvé la réaction positive vingt-deux fois. Ils ont fait un nombre total de 112 recherches chez des individus qui avaient eu la coqueluche et ils ont trouvé la sensibilisatrice dans 86 cas.

Nous avons nous-même recherché la déviation du complément dans les sérums d'individus à des durées variables de l'affection. Sur un nombre total de 20 cas expérimentés nous avons obtenu 15 résultats positifs.

En ce qui concerne, d'autre part, l'apparition et la disparition de la sensibilisatrice dans les sérums des coquelucheux, nous avons obtenu des résultats tout à fait concordants avec ceux de Bordet et Gengou et Mathieu-Pierre Weil.

Sur 15 sujets examinés de trois semaines à un an après le début nous avons obtenu 14 réactions positives. Chez un enfant la sensibilisatrice a été encore retrouvée deux années après le début de l'affection.

Ces différents résultats sont résumés dans le tableau suivant :

COQUELUCHE remontant à :	NOMBRE de malades	RÉACTION positive	RÉACTION négative
2 semaines	2	0	2
3 semaines	3	3	0
4 semaines	3	3	0
6 semaines	1	1	0
7 semaines	1	1	0
2 mois	1	1	0
3 mois	1	1	0
6 mois	1	1	0
1 an	4	3	1
2 ans	1	1	0
7 ans	1	0	1
9 ans	1	0	1
Total	20	15	5

MM. Gengou et A. Brunard, à propos du diagnostic de la coqueluche chez l'adulte (*Bulletin de l'Académie royale de Médecine de Belgique*, 28 mai 1910) ont pu démontrer dans le sérum de trois adultes, atteints de toux coqueluchoïde, la présence d'une sensibilisatrice anticoquelucheuse énergique, établissant la nature véritable de l'infection.

D'après M. E. Feer (*Archives de Médecine des enfants*, 1916) les adultes contractent la coqueluche beaucoup plus fréquemment que ne le disent les classiques. C'est aussi l'opinion de M. Paul-L. Tissier qui a, dans une communication à l'Académie de Médecine du 6 juin 1916, attiré l'attention sur la gravité de l'épidémie coquelucheuse qui sévissait à Paris et dans sa banlieue et qui se traduisait par l'existence de nombreux cas chez les adultes. Il a fait remarquer en même temps que, à l'encontre de ce qui se produit habituellement, c'était le plus souvent l'adulte qui transmettait la maladie à l'enfant.

Or, chez les adultes et les enfants d'un certain âge la symptomatologie de la coqueluche est la plupart du temps incomplète : le sifflement inspiratoire fait défaut. Le symptôme qui sert habituellement de base au diagnostic n'existe pas.

Le diagnostic de ces formes présente un réel intérêt car, pour la coqueluche comme pour les autres infections, le rôle joué par les cas frustes dans la propagation de la maladie est vraisemblablement loin d'être négligeable.

D'après M. Albert Delcourt, professeur agrégé de la Faculté de Bruxelles (*Le Diagnostic de la coqueluche fruste par la réaction de Bordet-Gengou* (Arch. Méd. des enfants, 1911), ces cas frustes existent non seulement chez les adultes, mais aussi chez les enfants. On peut démasquer ces formes frustes, qui sont beaucoup plus nombreuses qu'on ne le croit généralement, par la réaction de fixation du complément.

La symptomatologie de ces cas mérite un examen spécial. Certains enfants qui ont donné la réaction positive toussaient comme s'ils eussent été atteints de catarrhe bronchique, sans quinte, sans le cri et sans les vomissements, seulement quelques ronchus disséminés dans la poitrine.

La recherche systématique de la réaction de la fixation de l'alexine a pu seule éclairer le diagnostic. Grâce à cette méthode M. Delcourt put démontrer que, non seulement des porteurs de bacilles continuaient à fréquenter les classes, mais que l'épidémie avait été apportée, bien involontairement d'ailleurs,

par la maîtresse chargée du cours de solfège et ayant trois écoles de la même commune dans ses attributions. Cette personne toussait depuis plus de deux mois lorsqu'on lui préleva du sang qui présenta une réaction de déviation du complément positive.

Dans la plupart des cas étudiés par cet auteur, non seulement il n'était pas possible de faire le diagnostic de coqueluche, mais l'idée qu'il pouvait avoir affaire à cette affection ne lui serait pas venue à l'esprit s'il n'avait pas été en présence d'une épidémie très sévère.

Nous avons pu nous-même caractériser cette réaction chez trois adultes dont le sang avait été pris comme témoin dans nos expériences.

Il s'agissait : 1° d'un homme (quarante ans) et de sa femme (trente-sept ans) qui toussaient depuis un mois.

Il s'agissait d'une toux expiratoire, sans expectoration qui, d'après eux, redoublait d'intensité au commencement de la nuit.

Ces deux malades, qui venaient à l'Hôtel-Dieu pour subir un traitement contre la syphilis, ne présentaient rien d'anormal à l'auscultation.

Le troisième sujet était une femme âgée de cinquante-sept ans qui avait eu d'après ses dires, un an avant, des quintes de toux qui avaient duré trois ou quatre mois. Elle présentait des symptômes de bronchite et d'emphysème pulmonaire.

Elle avait d'ailleurs été en traitement, à l'Hôtel-Dieu, en décembre 1913, pour cette affection. La

réaction de fixation de l'alexine était positive en juin 1914.

Il s'agit vraisemblablement dans ces trois exemples de coqueluche fruste chez des adultes, affection qui, ne se présentant pas en période d'épidémie, était bien difficile à diagnostiquer ou même à soupçonner sous la réaction de Bordet et Gengou.

Nos résultats, donnés par des sérums témoins, ne proviennent donc point de recherches systématiques chez des individus qui toussent. Nous pensons qu'il serait intéressant de recourir à cet examen dans de nombreux cas de toux rebelle, particulièrement chez les adultes où l'aspect clinique de la coqueluche s'écarte notablement des signes classiques de cette affection.

M. Rousseau Saint-Philippe (*Bulletin de l'Académie de Médecine de Paris*, 6 juin 1911) a insisté sur l'importance de ce diagnostic et sur les dangers méconnus de la coqueluche qui, dans certains cas, favoriserait le développement de la tuberculose.

Il semble donc résulter de ces différentes recherches que :

1° La fixation de l'alexine de sérum d'homme, avec le microbe de Bordet et Gengou comme antigène, rend extrêmement probable que l'individu a ou vient d'avoir la coqueluche.

2° L'absence de réaction, au contraire, n'est pas une indication qui permette d'affirmer qu'un individu n'a pas la coqueluche ou ne l'a pas eue récemment. La fixation de l'alexine apparaît en effet assez tardi-

vement et elle peut disparaître au bout de quelques mois. Dans quelques cas elle peut manquer complètement lorsque les anticorps fixant l'alexine manquent au sérum.

3° Cette réaction permet en outre le diagnostic des coqueluches frustes, à symptomatologie atténuée (assez fréquentes chez les enfants et chez les adultes), ce qui peut présenter une grande importance au point de vue prophylaxie.

4° La réaction de fixation de l'alexine est utile pour le diagnostic différentiel des états s'accompagnant de toux coqueluchoïde.

La présence d'une sensibilisatrice particulière, démontrée par la réaction générale de Bordet et Gengou, est un argument essentiel en faveur de la spécificité du bacille découvert par ces auteurs.

Les résultats de l'expérimentation méritent aussi d'être signalés.

IV. — INOCULATION AUX ANIMAUX

MM. Bordet et Gengou, puis M. Klimenko ont essayé, par inoculation du microbe à des animaux, d'obtenir la reproduction expérimentale de la coqueluche. Des résultats très intéressants ont été obtenus avec les animaux très jeunes (singes et chiens).

Cette sensibilité expérimentale des jeunes animaux, opposée à la résistance des animaux adultes, mérite d'être rapprochée de la réceptivité que présente, pour le microbe, l'organisme humain pendant les premières années de son développement.

M. Klimenko prit 48 chiens très jeunes, 20 d'entre eux furent infectés par la voie nasale ou laryngée; les 28 autres furent mis en contact avec les premiers. Tous ces chiens, après une incubation de deux à six jours, présentèrent des phénomènes de catarrhe caractérisés par du coryza, de l'éternuement, une toux rauque. La mort survint le plus souvent après trente-neuf à quarante-huit jours de la maladie.

L'autopsie révéla des lésions de bronchite et de pneumonie où pullulait à l'état pur ou presque pur le microbe de Bordet et Gengou.

Le singe apparaît aussi réceptif, mais plus résistant que les jeunes chiens.

M. Fränkel confirma, à l'aide d'une technique différente, les résultats obtenus par Klimenko. En faisant respirer à des singes une pulvérisation de culture du cocco-bacille de Bordet et Gengou, il vit apparaître après une incubation de cinq à six jours, un tableau clinique fort comparable à celui de la coqueluche humaine : toux aboyante, quinteuse, avec reprises. Cette toux persistait pendant huit à dix jours, puis l'animal guérissait.

Ce cocco-bacille peut tuer la souris, le cobaye, le jeune chat.

Si l'on injecte dans l'œil du lapin un peu de culture pure du microbe, on ne constate qu'une lésion très limitée : l'humeur aqueuse reste limpide, mais la cornée s'opacifie très rapidement, devient blanche, en même temps que surviennent un larmoïement et une congestion conjonctivale intenses. La gravité de cette lésion surprend en raison de ce fait que la multiplication reste presque négligeable.

Il est probable que ce microbe sécrète des substances produisant non pas une intoxication générale, mais des effets locaux : action irritante ou même nécrosante.

Endotoxine coquelucheuse

Si l'on injecte dans le péritoine d'un cobaye ou d'un lapin, une émulsion de microbes dans le sérum

physiologique, on provoque la mort le lendemain ou le surlendemain de l'injection. Chose remarquable, il ne s'agit pas d'infection, les microbes ne se reproduisent pour ainsi dire pas dans le péritoine. Mais on constate des phénomènes d'intoxication très accentués se traduisant par une congestion des organes abdominaux, par de gros épanchements de la cavité pleurale, parfois aussi de la cavité péricardique.

La mort est due, dans ces cas, à l'endotoxine coquelucheuse.

En effet, l'inoculation dans le péritoine du cobaye de cultures liquides centrifugées ne produit pas d'accidents. Si l'on injecte au contraire l'endotoxine, isolée par le procédé de Besredka, elle tue les animaux en provoquant une dyspnée intense, des épanchements pleuraux et péricardiques, de la dégénérescence graisseuse et de la congestion du foie et des hémorragies des capsules surrénales.

Si on fait des injections sous-cutanées de cette toxine, en quantité très faible (0 cmc. 2) on détermine des lésions locales graves : œdème hémorragique, puis ulcère.

MM. Bordet et Gengou pensent donc que les lésions déterminées par le bacille coquelucheux sont dues à un poison mis en liberté chez l'animal par le parasite peut-être lors de la destruction de celui-ci. L'action de l'endotoxine coquelucheuse explique le fait que les inoculations de microbes coquelucheux chez le cobaye et le lapin occasionnent des troubles

graves, voire mortels, sans pullulation microbienne ou même avec disparition presque totale des bactéries injectées.

Il est aussi logique de penser que des lésions de même ordre que celles que nous observons chez les animaux de laboratoire, se produisent également chez l'enfant atteint de coqueluche.

Les résultats de l'inoculation sous-cutanée d'endotoxine au cobaye sont spécialement instructifs à ce point de vue. Il est probable que la trachée et les bronches de l'enfant atteint sont lésées par le poison coquelucheux, qui en nécrose le revêtement épithélial, comme il nécrose la peau du cobaye.

D'ailleurs Leonardo Dominici (*Riv. di Cli. Pediatrica*, nov. 1907) a signalé des lésions observées à l'autopsie d'enfants morts de coqueluche et n'ayant pas présenté de complications. Il a vu, à la période catarrhale, de l'inflammation de la muqueuse laryngée, spécialement dans la région sus-glottique et sur la partie supérieure de la région sous-glottique ; à la période spasmodique il a observé de l'inflammation nécrosante.

On s'expliquerait ainsi la persistance de la toux quinteuse chez l'enfant, à un moment où le microbe spécifique est difficile à trouver. La lésion produite par le poison coquelucheux serait ainsi la cause principale de la durée si longue de la coqueluche.

Sérothérapie

MM. Bordet et Gengou ont immunisé des chevaux et préparé un sérum anticoquelucheux. Le sérum ainsi obtenu possède des propriétés bactéricides ; il provoque chez l'homme la disparition des bacilles. M. Duthoit (*Journal de médecine interne*, déc. 1913) a expérimenté ce sérum. Il a injecté 10 à 30 centimètres cubes (suivant l'âge) dans la peau du flanc, chez 71 enfants. Il a obtenu 51 résultats favorables où il y a eu diminution ou disparition des quintes et 20 défavorables (diminution minime ou nulle des quintes).

Dans tous les cas favorables il se manifeste après l'injection de sérum une décroissance nette dans le nombre des quintes qui durent moins longtemps ; de plus les vomissements disparaissent. L'amélioration est d'autant plus visible que le sérum a été injecté plus tôt.

Les accidents sériques sont sans gravité. Un érythème sérique a été constaté dans 3 cas seulement.

Klimenko a traité avec son sérum 35 enfants ; Il prétend que ce sérum diminue le nombre et la durée des quintes, mais n'arrête pas le développement de la toxine.

Bordet et Gengou font eux-mêmes remarquer que le sérum d'un cheval vacciné par des injections répétées de bacilles ne neutralise pas le poison coquelucheux.

L'injection du mélange sérum et toxine dans le péritoine d'un cobaye tue ce dernier en produisant les mêmes lésions que l'endotoxine pure. Au surplus, la vaccination des animaux contre l'endotoxine coquelucheuse est très difficile.

Nous avons vu que la trachée et les bronches des enfants atteints de coqueluche sont lésées par l'endotoxine qui nécrose le revêtement épithélial.

Cette conception des faits peut expliquer les effets insuffisants produits, jusqu'ici, par la sérothérapie.

Le sérum a été toujours administré quand l'affection était bien caractérisée, c'est-à-dire lorsque les lésions dues à l'endotoxine étaient vraisemblablement déjà produites et la pullulation microbienne en décroissance. Il est donc possible que son action microbienne, si elle existe vraiment, n'ait pas eu l'occasion de se manifester. Peut-être que ce sérum, injecté préventivement à des enfants, se trouvant en contact avec des coquelucheux, serait-il efficace.

Bactériothérapie

Depuis quelques années est apparue une nouvelle méthode thérapeutique, la bactériothérapie, surtout mise en usage en Amérique.

Plusieurs auteurs ont fabriqué des vaccins. Ce sont des émulsions de microbes dans une solution physiologique. Le mélange est chauffé à 46 degrés pendant une demi-heure.

On injecte des doses variant de 30 à 100 millions suivant l'âge de l'enfant. Ces doses sont répétées tous les quatre ou cinq jours. Les injections sont faites sous la peau et ne provoquent pas d'accidents.

Tous les médecins qui ont essayé ces vaccins ont obtenu des résultats intéressants : il y a souvent guérison, presque toujours amélioration et assez rarement le vaccin est inefficace.

C'est ainsi que Graham a vacciné 34 enfants et a obtenu 17 améliorations.

Sanders et Johnson essayèrent leur vaccin sur 50 coquelucheux. Chez 40 ils ont employé le vaccin comme méthode curative ; chez les 10 autres comme méthode prophylactique. Ces auteurs prétendent que le vaccin agit seulement au début de la coqueluche et dans les cas non compliqués.

M. O.-H. Helsall (*The Therapeutic Gazette*, 15 janv. 1914) nous fait connaître les résultats qu'il a obtenus sur 30 malades dont la plupart avaient moins de trois ans. Les quintes étaient plus rares, plus légères et la maladie raccourcie. Les conclusions sont absolument favorables à la vaccination contre la coqueluche.

MM. Nicolle et A. Conor, lors de l'épidémie de Tunis ont vacciné 104 enfants. Ils ont obtenu 37 guérisons, 40 améliorations et dans 27 cas le vaccin a été sans efficacité.

Si la guérison doit avoir lieu, elle se manifeste en général presque aussitôt après les premières injections. Dans les cas d'amélioration, les symptômes

s'atténuent assez rapidement. Les quintes deviennent beaucoup plus rares, plus légères, les vomissements disparaissent; l'état général est meilleur et la durée de la maladie est abrégée.

Mme Chievitz et M. Meyer, de Copenhague, ont aussi préparé un vaccin essayé par eux et par d'autres médecins. Il a été employé dans 60 cas environ, tantôt comme moyen préventif, tantôt comme moyen curatif. Les premiers résultats ayant paru favorables, ils vont continuer dans cette voie pour compléter et couronner leurs intéressantes investigations.

Mme Mathilde de Biehler, ancien assistant à la clinique thérapeutique de Varsovie, a fait des essais avec du vaccin contenant 100 millions de microbes par centimètre cube, préparé dans le laboratoire de M. Serkowki. Elle a opéré sur des enfants de deux à quatorze ans.

Elle injecte :

0 cmc. 20 à 0 cmc. 40 aux enfants de deux à trois ans;

0 cmc. 40 à 0 cmc. 60 aux enfants de trois à cinq ans;

0 cmc. 60 aux enfants de plus de cinq ans.

Elle a traité ainsi 29 enfants et a obtenu 19 guérisons et 9 améliorations. Dans un seul cas le vaccin a été sans effet. Il s'agissait d'un enfant chétif, qui avait la coqueluche pour la deuxième fois et qui a succombé.

La guérison a eu lieu chez :

7 enfants au bout de six jours ;

9 enfants au bout de huit jours ;

3 enfants au bout de dix jours.

Pour montrer l'intérêt de ce traitement Mme de Biehler nous donne l'observation d'un jeune garçon de six ans obligé de passer toute la journée au lit durant la première semaine. Il était tellement fatigué qu'il perdait connaissance après chaque accès. Le nombre des quintes journalières de 30 est tombé à 4 ou 5 après l'injection du vaccin. L'enfant se mit à manger, les vomissements cessèrent, et c'est seulement de temps à autre qu'une légère quinte rappelait l'existence de la coqueluche.

Ces différents résultats nous montrent que la bactériothérapie a déjà donné les résultats les plus encourageants et bien supérieurs à ceux des méthodes employées jusqu'à présent.

Nous ne pouvons pas dire que la vaccination donne des résultats toujours positifs, mais elle est efficace dans la plupart des cas.

La coqueluche est une maladie qui non seulement épuise les enfants, mais laisse fréquemment des traces dans l'organisme, la thérapeutique est souvent inefficace, les médicaments employés ne donnant presque jamais des résultats identiques. La vaccination, méthode nouvelle, basée sur des recherches déjà nombreuses, mérite d'être essayée. Elle semble avoir enrichi nos moyens de traitement de la coqueluche.

CONCLUSIONS

Le microbe isolé par MM. Bordet et Gengou semble être l'agent étiologique de la coqueluche.

Les preuves de sa spécificité résultent :

1° De son isolement des crachats où il existe constamment à une période précoce de l'affection ;

2° De ses propriétés vis-à-vis des sérums d'individus récemment guéris de la coqueluche :

a) Agglutination dont l'énergie est modérée, mais constante et manifeste.

b) Epreuve générale de la déviation du complément, pouvant permettre le diagnostic des coqueluches frustes assez fréquentes chez les enfants et les adultes ;

3° Des résultats de l'expérimentation qui a reproduit chez des animaux des symptômes assez analogues à la coqueluche ;

4° Des résultats favorables du traitement par la sérothérapie et la vaccinothérapie anticoquelucheuse.

Vu : le Président de la thèse,

MARFAN

Vu : le Doyen

ROGER

Vu et permis d'imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris

POINCARÉ

BIBLIOGRAPHIE

- ARNHEIM. — Kluchhustenuntersuchungen (Arch. f. Kinderheilk, 1909, L).
- BORDET et GENGOU. — Le Microbe de la coqueluche (Ann. de l'Institut Pasteur, t. XXI, 1901).
- *Ibid.*, t. XX, 1906.
 - Le Microbe de la coqueluche (Ann. de l'Institut Pasteur, 1907).
 - Le Diagnostic de la coqueluche fruste par la méthode de fixation de l'alexine (Centr. f. Bakt. Abt, I. Orig. Bd, LVIII, H. 6).
 - Endotoxine coquelucheuse (Ann. de l'Institut Pasteur, 1909).
 - A propos de la note de A. et H. Soulimo sur la coqueluche (Comptes rendus de la Société de Biologie, 1907).
 - Etiologie de la coqueluche, état actuel de la question (Centralb. f. Bakteriologie (Refer), 1909, XLIII, 9-12).
- BORDET et SLEEWIJK. — Sérodiagnostic et variabilité des microbes suivant les milieux de culture (Ann. de l'Institut Pasteur, 1910).
- BACHER et MENSCHIKOFF. — Über die ätiologische Bedeutung des Versuch einer spezifischen Therapie der Pertussis (Centralb. f. Bakteriologie (orig.), 1911, LXI, 3).
- BIEHLER (Mathilde de). — Du traitement de la coqueluche par le fluoroforme (Arch. Médecine des enfants, 1910).
- Bactériologie et thérapeutique de la coqueluche (Arch. Médecine des enfants, 1915).

- CZAPLEWSKI et HENSEL. — Bakt. Untersuch, sei, Keuchhust. (Med. Woch., 1897, n° 37).
- CHIEVITZ† (Mad. Ingeborg) et MEYER (Adolph-H.). — Recherches sur la coqueluche (Annales de l'Institut Pasteur, 1916).
- COMBY (J.). — Traitement de la coqueluche par les injections de morphine (Bull. de la Société de Pédiatrie, t. XI, 1909).
- DELCOURT. — Le diagnostic de la coqueluche fruste par la réaction de Bordet-Gengou (Arch. de Médecine des enfants, 1911).
- DAVIS (J.). — La bactériologie de la coqueluche (Journal de Physiologie et de Pathologie, 1906).
- DUTHOIT. — Communication préliminaire sur le traitement sérothérapique de la coqueluche (Arch. de Méd. des enfants; Bull. de la Soc. de Péd., 1910).
- FINIZIO. — Der Bordet Gengousche Bacillus in der Ätiol. des keuchhustens (J. f. Kinderh, Bd. III, H, 2, 1914).
- FRÄNKEL (C.). — Untersuchungen zur Entstehung des Keuchhustens (Munch. med. Wochenschr., 1908).
- FREEMAN. — In discussion de la communication de Bordet et Gengou : The microbe of whooping Cough (in Brit. Med. Journal, 1909).
- HUTINEL (V.). — Les maladies des enfants. Coqueluche, t. I, 1909.
- HUDELO. — Nouveau traité de méd. et therap. Brouardel, Gilbert et Thoinot, fasc. IX, 1911.
- ITSUYOSHI INABA. — Ueber den Gengouschen keuchhustensbac (Zeitscher. Kinderh. orig., 1912).
- KON (TADÉE). — Sur le microbe de la coqueluche (Gaz. Lekaska, 1910).
- KLIMENKO. — Etiologie de la coqueluche, coqueluche expér. (Semaine médicale, 1908).
- Morphologie und Biologie des Keuchhustenbacillus (Centralb. f. Bakt. (orig.), 1909, L, 3).

- KLIMENKO. — Bakteriologische Untersuchungen des Blutes von Keuchhustenkranken Kindern und von mit Keuchhusten infizierten Tieren (Centralb. f. Bakteriolog. (orig.), 1910, t. LVI, 5-6).
- Sérum anticoquelucheux (Centralb. f. Bakteriolog. (orig.), 1910).
- KELSALL. — Pertussis vaccine (The therapeutic gazette, 1914).
- LADD-MAYNAM. — Vaccines in the treatment of pertussis (Arch. of Ped., t. XXIX, 1912).
- MENCHIKOFF. — Sur les microbes de la coqueluche (Rouss. Wratch, 1909).
- MANICATIDE. — Ueber Ätiol. u. Seroth. der. Keuchh. (Zeitschr. f. Hyg. Bd., t. XIV, 1903).
- MARFAN (Prof.). — Traité de la coqueluche par les injections de morphine (Bull. Soc. de Pédiatrie, t. XI, 1909).
- NICOLLE et CONOR (A.). — Vaccinothérapie dans la coqueluche (Progrès médical, 1913).
- NETTER et WEIL. — La Déviation du complément par le bacille de Bordet et Gengou dans la coqueluche (Soc. de Biologie, t. XXIV, 1913).
- ODAIRA. — Beitr. z. Kent. der hämoglobinophilen Bacillen (Centr. f. Bakt., Abt., I, Bd., t. LXI, H, 24, 1911).
- POLEFF. — Ueber den Bordet-Gengouschen Keuchhustenbac. (Centr. f. Bakt. Abt. (orig.), B. LXIX, H, 1-2, 1913).
- ROSENTHAL. — Le Sérum anticoquelucheux de Klimenko et son emploi (Journ. de méd. de Paris).
- RIBADEAU-DUMAS. — Notions récemment acquises sur l'étiologie de la coqueluche (Paris méd., 1913).
- REYHER. — Ein weiterer Beitrag. z. Bakt. des Keuchh. (Charité, Ann., 1905).
- SOULIMA. — Contribution à l'étiologie de la coqueluche (C. R. de la Soc. de Biologie, t. LXIII, 1907).
- SEIFFERT (G.). — Ueber den Bordetschen Keuchhustenbac. (Munch med. Woch., 1909, n° 3).

SHIGA (K.), IMAI et EGUCHI (Ch.). — Eine modification Von Bordet. Gengouschen Nährboden für die Keuchhustenbac. Nebstenigen Ergebn. in serolog. Beziehung (Centr. f. Bakt. (orig) Abt, I, Bd, t. LXIX, H, 1-2, 1913).

ROUSSEAU SAINT-PHILIPPE. — Dangers méconnus de la coqueluche et tuberculose (Bull. Acad. Méd. de Paris, 1911).

SANDERS, JOHNSON, WHITE AND ZABORKY. — Pertussis vaccine as a curative and prophylactic agent (Pediatrics, 1912).

WOLLSTEIN (M.). — Der Bordet-Gengousche Keuchh. (Ref. in arch. f. Kinderh, 1909, n° 1).

Imp. de la Faculté de Médecine, 15, rue Racine, Paris. — 3617-18
